

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1958

N°
110

T H È S E
POUR LE
DOCTORAT EN MÉDECINE

par

Jean ROSA

Interne des Hôpitaux de Paris

Né le 12 Mai 1927, à Paris

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE _____ 19____

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'HÉMOGLOBINE
PAR L'ÉLECTROPHORÈSE SUR AMIDON

Président : M. JEAN BERNARD, *Professeur*

T H È S E
POUR LE
DOCTORAT EN MÉDECINE

par

Jean ROSA

Interne des Hôpitaux de Paris

Né le 12 Mai 1927, à Paris

PRÉSENTÉE ET SOUTÈNUE PUBLIQUEMENT LE _____ 19____

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'HÉMOGLOBINE
PAR L'ÉLECTROPHORÈSE SUR AMIDON

Président : M. JEAN BERNARD, Professeur



PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. BENARD (H.), BROCC (P.), BULLIARD (H.), CADENAT (F.),
CARNOT (P.), CHABROL (Et.), CHAMPY (C.), CHEVASSU (M.) DEBRÉ
(R.), DELBET (P.), DONZELOT (E.), GASTINEL (P.), GUILLAIN (G.),
HALPHEN (E.), HARVIER (P.), LAROCHE (G.), LAUBRY (Ch.), LEMAI-
TRE (F.), LEVY-SOLAL (E.), LHERMITTE (J.), LIAN (C.), LOEPER
(M.), MARION (G.), MATHIEU (P.), MOCQUOT (P.), MONDOR (H.),
MULON (P.), OLIVIER (E.), RICHT (Ch.), SANNIE (Ch.), SEZARY
(A.), TANON (L.), VELTER (E.).

DOYEN Léon BINET,
Membre de l'Institut

ASSESEUR Jean VERNE.

I - PROFESSEURS :

	MM.
Anatomie	CORDIER (G.)
Anatomie pathologique	DELARUE (A.)
Bactériologie	FASQUELLE (R.)
Biochimie Médicale	JAYLE (M.F.)
Biologie appliquée à l'Education physi- que et aux Sports	CHAILLEY-BERT (P.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Cancérologie médicale et sociale	BERNARD (J.)
Clinique de cardiologie	MOUQUIN (M.)
(Beaujon	SICARD (A.)
Cliniques chirurgicales:) Cochin	QUENU (J.)
(Hôtel-Dieu ..	MENEGAUX (G.)
(Salpêtrière ..	MOULONGUET (P.)
Clinique chirurgicale réparatrice et orthopédique	MERLE D'AUBIGNE (R.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire.	de GAUDART-D'ALLAINES (F.)
Clinique de chirurgie infantile et d'orthopédie	FEVRE (M.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire.	MONOD (R.)
Clinique gynécologique	FUNCK-BRENTANO (P.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	DEGOS (P.)
Clinique des maladies des enfants	CATHALA (J.)
Clinique des maladies infectieuses	MOLLARET (P.)

Clinique des maladies mentales et de l'encéphale	MM.
Clinique des maladies métaboliques	DELAY (J.)
Clinique des maladies du sang	HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du système nerveux	CHEVALLIER (P.)
(Bichat	ALAJOUANINE (T.)
Cliniques médicales ...) Broussais	JUSTIN-BESANÇON (L.)
(Cochin	DE GENNES (L.)
(Hôtel-Dieu ...	MOREAU (R.)
Clinique médicale d'hydro-climatologie thérapeutique	BARIETY (M.)
Clinique médicale propédeutique	DEBRAY (C.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition	PASTEUR VALLERY-RADOT (L.)
Clinique de neuro-chirurgie	BOULIN (R.)
Cliniques obstétricales (Baudelocque ..	PETIT-DUTAILLIS (D.)
(Port-Royal ...	LACOMME (M.)
Clinique d'obstétrique et de gynécologie	VARANGOT (J.)
Clinique ophtalmologique	LANTUEJOUL (P.)
Clinique oto-rhino-laryngologique	RENARD (G.)
Clinique de pneumo-phtisiologie	AUBIN (A.)
Clinique psychiatrique infantile	BERNARD (E.)
Clinique de puériculture	HEUYER (C.)
Clinique rhumatologique médicale et sociale	LELONG (M.)
Clinique stomatologique	COSTE (F.)
Clinique thérapeutique chirurgicale	DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique médicale	SENEQUE (J.)
Clinique urologique	LEMAIRE (A.)
Embryologie	FEY (B.)
Génétique médicale	GIROUD (A.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LAMY (M.)
Histologie	SOULIE (P.)
Hygiène et clinique de la première enfance	VERNE (J.)
Hygiène et médecine préventive	TURPIN (R.)
Médecine légale	JOANNON (C.)
Médecine du travail	PIEDELIEVRE (R.)
Parasitologie et histoire naturelle médicale	DESOILLE (H.)
Pathologie chirurgicale	GALLIARD (H.)
Pathologie exotique	COUVELAIRE (R.)
Pathologie expérimentale et comparée ...	LAVIER (G.)
Pathologie humorale et immunologie expérimentale (chaire à titre personnel) ..	LENEGRE (J.)
Pathologie médicale	MERKLEN (F.)
Pathologie et thérapeutique générales ..	DECOURT (J.)
	GARCIN (J.)

	MM.
Pédiatrie sociale	MARIE (J.)
Pharmacologie et matière médicale	HAZARD (R.)
Physico-chimie médicale (chaire à titre personnel)	DOGNON (A.)
Physiologie	BINET (L.)
Physique médicale	STROHL (A.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale	PATEL (J.)
Thérapeutique	BROUET (G.)

II - PROFESSEURS SANS CHAIRE

MAITRES DE CONFÉRENCES-AGRÉGÉS ET AGRÉGÉS

	(DELMAS (A.), Pr.s.ch.
Anatomie	) CABROL (C.)
	) DEBEYRE (J.)
	(OLIVIER (G.)
	(GAUTHIER-VILLARS (Melle P.)
Anatomie pathologique	) Pr.s.ch.
	) BUSSET (F.)
	(GOUYGOU (Ch.)
Bactériologie	(NEVOT (A.) Pr.s.ch.
	(CHRISTOL (D.)
	(ETTORI (J.) Pr.s.ch.
Biochimie médicale	) DESGREZ (P.)
	) POLONOVSKI (J.)
	(SCHAPIRA (G.)
Biologie médicale	BOURLIERE (F.)
Dermato-Syphiligraphie	DUPERRAT (F.)
Embryologie	TUCHMANN-DUPLESSIS (H.)
	(COUJARD (R.)
Histologie	) N...
	(N...
Hydrologie	CORNET (A.)

MM.

Hygiène	(BOYER (J.), Pr.s.ch. (DEPARIS (M.), Pr.s.ch.
Maladies infectieuses	BASTIN (R.)
Médecine légale	(DEROBERT (L.), Pr.s.ch. (GAULTIER (M.) (HADENGUE (A.)
Médecine du travail	ALBAHARY (C.)
Neuro-chirurgie	DAVID (M.)
Neurologie	LHERMITTE (F.)
Obstétrique	(GRASSET (J.) (LE LORIER (G.) (LEPAGE (F.)) MERGER (R.) (MORIN (P.) (RAVINA (J.) (ROBEY (M.)
Ophthalmologie	(BREHEAT (P.) (DESVIGNES (P.)
Orthopédie	JUDET (R.)
Oto-rhino-laryngologie ...	(AUBRY (M.) (MADURO (R.)
Parasitologie	(BRUMPT (L.C.) (CHABAUD (A.)
Pathologie chirurgicale ..	(ABOULKER (P.) (BARCAT (J.) (BAUMANN (J.) (CAUCHOIX (J.) (DUBOST (C.) (FAUREL (J.)) FLABEAU (F.)) GERMAIN (A.) (GOSSET (J.) (LAURENCE (G.) (LORTAT-JACOB (J.) (MATHEY (J.) (OLIVIER (Cl.) (POILLEUX (F.)

MM.

Pathologie chirurgicale ..	(THOMERET (G.) (VERNE (J.M.)
Pathologie expérimentale .	(LÖEPER (J.) (MAURICE (P.) (BOUDIN (G.) (BOUVIER (J.B.) (BRICAIRE (H.) (BRISSAUD (H.) (CASTAIGNE (P.) (CONTE (M.) (DEROT (M.) (DOMART (A.) (LAMOTTE (M.)
Pathologie médicale	(LAROCHE (C.P.) (MACREZ (Cl.) (MILLIEZ (P.) (PEQUIGNOT (H.) (PERRAULT (M.) (RAMBERT (P.) (ROYER (P.) (THIEFFRY (St.) (TURIAF (J.) (WOLFROMM (R.) (N...
Pédiatrie	(JOSEPH (R.) (MOZZICONACCI (P.) (POLONOVSKI (Cl.)
Pharmacologie	(CHEYMOL (J.), Pr.s.ch. (LEVY (Melle J.), Pr.s.ch.
Physiologie	(BARJETON (D.), Pr.s.ch. (PARROT (J.), Pr.s.ch. (DEJOURS (P.)
Physique médicale	(DJOURNO (A.), Pr.s.ch. (COUGEROT (L.)
Pneumo-phtisiologie	KREIS (B.)
Psychiatrie	PICHOT (P.)
Psychiatrie infantile	MICHAUX (L.)
Rhumatologie	DELBARRE (F.)

MM.

Stomatologie (CERNEA (P.)
(CHAPUT (Mme A.)

Thérapeutique CHASSAGNE (P.)

Urologie KUSS (R.)

III - PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGRÉGÉS

CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent

MM.

Clinique chirurgicale) AMELINE (A.)
) HUGUIER (J.)
) LEGER (L.)
) PADOVANI (P.)
) ROUX (M.)

	(DREYFUS (Gilbert)
Clinique médicale	) HAGUENAU (J.), Pr.s.ch.
	) KOURILSKY (R.)
	(MARCHAL (G.)

Clinique neurologique DE SEZE (S.)

Clinique obstétricale MAYER (M.)

Clinique ophtalmologique ... OFFRET (G.)

Clinique pédiatrique LAPLANE (R.)

Clinique psychiatrique BARUK (H.)

A ma mère,

dont l'immense sollicitude
ne m'a jamais manqué.

A mon père,

dont le travail acharné
est pour moi le meilleur
des exemples.

A ma femme,

dont la présence à mes côtés
rend toujours tout possible.

A mes fils.

A ma sœur et mon beau-frère,

dont l'appui fraternel est
toujours sans défaillance.

A Colette et Jean-Claude Kahn,

mes amis.

A Monsieur le Professeur Robert DEBRÉ,

dont nous avons suivi l'enseignement
comme externe et comme interne, et qui
nous a guidé vers la Recherche,

qu'il trouve ici l'humble témoignage
de notre très respectueuse admiration
et de toute notre reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Jean BERNARD,

qui nous a, par son enseignement
inégalable, attiré vers l'hématologie,
qui nous a confié la partie clinique
de ce travail et a accepté de présider
notre thèse,

qu'il trouve ici le témoignage de toute
notre gratitude et la certitude de notre
attachement total.

A Monsieur le Professeur agrégé Georges SCHAPIRA,

qui nous a accueilli dans son laboratoire,
nous a suggéré notre travail, nous a
encouragé et aidé, et nous a honoré de
son amitié,

A Monsieur le Professeur Jean-Claude DREYFUS,

qui de même a dirigé notre thèse,
corrigé nos erreurs, éduqué notre igno-
rance avec la patience la plus extrême.

A Madame le Docteur Fanny SCHAPIRA,

Chargée de Recherches au C.N.R.S.,

qui a supporté avec le sourire nos débuts
maladroits et nous a sans cesse aidé et
encouragé.

qu'ils trouvent ici le témoignage de
notre immense gratitude.

A Monsieur le Professeur agrégé Jacques KRUH,

qui a perdu un temps précieux, malgré
un travail accablant, à nous prodiguer
ses conseils.

A mes camarades du Laboratoire,

J. DEMOS, l'inimitable, D. LABIE,
L. MARCAUD, P. PADIEU, R. SADDI,
V. SCHWARZMANN,

qui nous prodiguent leur amitié
et leur aide,

Ainsi qu'à tout le Personnel du Laboratoire,

à qui nous devons tant.

A Monsieur Le Docteur Antoine LAPORTE,

Médecin de l'Hôpital Claude Bernard,

à qui beaucoup doivent beaucoup
et à qui je dois tout.

A Monsieur Léon AUGÉ,

Professeur de lettres au Lycée Périer
de Marseille,

qui, en m'apprenant le latin, sut
éveiller en moi l'amour du travail.

A Monsieur le Professeur Jean HAMBURGER,

qui m'a fait le grand honneur de me
prendre comme interne dans son Service
et m'a fait bénéficier de son enseigne-
ment éblouissant.

A mes Maîtres d'Internat,

Monsieur le Professeur agrégé P. MOZZICONACCI,
Messieurs les Docteurs F. BENOIST,
A. GROSSICORD,
R. MANDE,
A. NETTER,
G. RICHET.

et à leurs Assistants

qui nous ont aidé quand nous étions
dans la peine,

Messieurs les Docteurs HELD,
TINEL,
HERRAULT et LOUBRY,
JACQUOT et LEPINTRE,
MATHE et CHAVELET,
LUMBROSO.

A mes Maîtres d'Externat,

Messieurs les Médecins et Chirurgiens des Hôpitaux

Professeur A. BASSET + ,
Docteurs M.P. WEILL + ,
R. CATTAN,
M. BOLGERT,
M. ALBEAUX-FERNET,
B. JAMAIN.

A nos amis,

Jacques CHASSIGNEUX,

Marc CIERF,

Jean ETERSTEIN,

Michel HAYEN,

Jacqueline KAHN-KAETIAN

Jean-Philippe LERY,

Jean PICARD,

à André PIAVES

qui nous a honoré de son amitié
et qui a décédé de notre carrière
hospitalière,

"In memoriam"

INTRODUCTION

I N T R O D U C T I O N

Cette étude comporte trois parties :

- L'exposé des techniques utilisées, c'est-à-dire :
 - = électrophorèses sur amidon, et
 - = incorporations de ^{59}Fe et ^{14}C dans l'hémoglobine ;
- Les résultats cliniques observés ;
- Les résultats expérimentaux obtenus ;
enfin, l'exploitation que l'on peut espérer de ces méthodes.

PREMIERE PARTIE

TECHNIQUES UTILISEES

PREMIERE PARTIE

TECHNIQUES UTILISEES

Nous avons utilisé essentiellement deux méthodes :

- l'électrophorèse sur plaque horizontale,
- l'électrophorèse sur colonne verticale,

1. ELECTROPHORESE SUR PLAQUE HORIZONTALE.

Nous avons utilisé la méthode décrite par KUNKEL, que nous avons légèrement modifiée. Elle consiste essentiellement à faire migrer sur une plaque d'amidon préparée extemporanément l'échantillon d'hémoglobine.

Nous avons utilisé des plaques de 40 cm x 1 cm x 18 cm. L'amidon est lavé trois fois avec du tampon véronal, $\mu = 0,05$, pH 8,6. La plaque terminée est recouverte de cellophane sur laquelle on pulvérise du silicone. Nous avons

ainsi obtenu de meilleurs résultats qu'avec de la paraffine. Le courant utilisé est de 550 Volts sous 25 mA. Il arrive par des électrodes de carbone dans des bacs périphériques. Ceux-ci sont réunis à des bacs intermédiaires par des siphons bouchés à leurs extrémités par de la laine de verre. On établit enfin le contact entre ces bacs et la plaque d'amidon grâce à des ponts de gaze. Ceux-ci doivent être suffisamment épais pour permettre une bonne conduction. Par ce montage, on évite les changements de pH sous l'influence du courant, les siphons arrêtant suffisamment les mouvements de sels. La tension obtenue aux deux extrémités de la plaque est de l'ordre de 220 V., donnant un champ d'environ 5 V/cm.

Préparation de l'hémoglobine.

On utilise la technique de DRABKIN modifiée :

Prélèvement du sang sur héparine - Lavage au sérum physiologique suivi de trois lavages au sérum hypertonique à 12 p. mille - Hémolyse à l'eau bi-distillée - Précipitation avec du toluène redistillé après avoir mis en contact une demi-heure à 4° - On laisse en contact, toujours à 4°, pendant au moins 12 heures. Puis on centrifuge 20 minutes - La couche d'hémoglobine prélevée subit encore deux centrifugations de 1 heure à 30.000 G; ceci est nécessaire pour éliminer le plus complètement possible les protéines du stroma

qu'une simple filtration n'enlèverait pas. - On mesure la concentration d'hémoglobine ainsi obtenue au spectrophotomètre sur 520 mμ. - On carboxyle avec un générateur d'oxyde de carbone. Les échantillons sont ensuite conservés à 4° et à l'obscurité.

Dépôt de l'hémoglobine sur la plaque.

Après différents essais, nous nous sommes arrêté à la méthode suivante :

Mélange de 100 μl d'hémoglobine, amenée à 6 p. cent par la quantité nécessaire de tampon carboxylé, avec de l'amidon. Le mélange pulvérulent obtenu est introduit dans des fentes creusées sur la plaque. On fait en général 5 fentes de 1 cm de largeur, séparées les unes des autres par 1,5 cm, et situées à au moins 10 cm en avant de l'extrémité cathodique de la plaque. La migration s'effectue en 16 heures à 4°.

Après la fin de l'électrophorèse, nous avons systématiquement réalisé une empreinte selon la technique décrite par BISERTE. On révèle celle-ci au bleu de bromophénol en solution alcoolique. Ceci permet de conserver un document.

Dans les cas où nous avons voulu récupérer les fractions, nous avons utilisé la méthode suivante :

- Découpage des zones intéressantes - Mélange pâteux avec de l'eau bidistillée - Filtration sur büchner. L'élution ainsi

obtenue est pratiquement complète.

Concentration.

Nous avons reconcentré les fractions ainsi obtenues, sans aucun dommage apparent pour l'hémoglobine, en utilisant la technique décrite par Mc CLENDON et SOMERS. La fraction est introduite dans un sac à dialyse refermé à ses deux extrémités et simplement posé au contact de poudre de polyéthylène glycol. Le quart du poids de la solution à concentrer suffit pour concentrer d'une quarantaine de fois en douze heures la solution d'hémoglobine.

2. ELECTROPHORESE SUR COLONNE VERTICALE.

Nous avons utilisé le montage décrit par PORATH et FLODIN sans autres modifications que l'utilisation de siphons identiques aux précédents pour éviter toute modification de pH. En général, nous avons opéré sous un voltage de 900 V avec 25 mA pendant 24 heures.

Les temps délicats de cette méthode se sont révélés être :

1) le tassement de l'amidon, qui doit être très régulier et très poussé pour limiter au maximum les effets d'électromose ;

2) le dépôt de la solution d'hémoglobine : dans cette variété d'électrophorèse, nous avons utilisé des échantillons d'hémoglobine dialysés au moins 48 heures contre le tampon utilisé. Le dépôt de l'hémoglobine doit être extrêmement minutieux sous peine de déranger l'extrémité supérieure rigoureusement plane de la colonne d'amidon ;

3) la descente de la zone colorée jusqu'à l'endroit choisi pour effectuer l'électrophorèse doit être très lente pour diminuer l'étalement de la bande. Un excellent moyen consiste à utiliser un montage avec système de Mariotte. On peut ainsi obtenir des débits très faibles de l'ordre de 4 ml à l'heure.

3. ELECTROPHORÈSE EN DEUX DIMENSIONS.

Nous avons utilisé le montage décrit ci-dessus (p. 4), mais avec une plaque d'amidon de 20 cm x 20 cm x 1 cm. Une première migration est réalisée. Au bout de 16 heures, elle est interrompue et on place les bornes électriques sur les bords de la plaque perpendiculaires à ceux utilisés au début. Une seconde migration est effectuée, qui s'opère donc dans une direction perpendiculaire à la première.

4. EXPERIENCES UTILISANT LES ELEMENTS MARQUES.

A) ^{59}Fe - On injecte 15 microcuries de ^{59}Fe . Le prélève-

ment de sang est effectué 10 jours après l'injection ; l'hémoglobine est préparée de la façon habituelle.

B) ^{14}C - Nous avons utilisé la méthode d'incorporation in vitro par les réticulocytes, telle qu'elle est décrite dans la thèse de doctorat ès-Sciences de J. KRUIH. Elle consiste à incuber pendant 3 heures la suspension de réticulocytes avec une solution de Krebs-Henseleit, une solution d'acides aminés, du bicarbonate de soude, du fer, du glycocolle ^{14}C uniformément marqué, en présence de carbogène, et à 37° .

C) Dans les deux types d'expériences, on a prélevé deux fractions hémoglobiniqes en coupant les taches principales par un plan frontal et médian. La fraction postérieure est appelée "I", l'antérieure "II".

D) Après dialyse et concentration des fractions obtenues, on a préparé l'hémine sous forme de pyridinate d'hémine par hydrolyse en présence d'acétone chlorhydrique, filtration de la globine, précipitation de l'hème en milieu aqueux et formation d'un pyridinate d'hémine.

DEUXIEME PARTIE

R E S U L T A T S E N C L I N I Q U E

DEUXIEME PARTIE

RESULTATS EN CLINIQUE

Dans cette partie de notre travail, nous avons utilisé uniquement l'électrophorèse sur plaque horizontale.

Voici quels ont été nos résultats :

1. HEMOGLOBINE DE L'ADULTE SAIN.

Nous avons constamment retrouvé le même aspect : Fractionnement apparaissant au bout de 12 heures en une tache principale prolongée du côté de l'anode par une pointe allant en s'effilant, et suivie par une tache cathodique postérieure qui en est séparée ; elle est quantitativement beaucoup plus faible. Cette fraction, appelée A_2 représente en moyenne 2,5 p. cent de la quantité totale. La fraction principale est appelée A.

La fraction A_2 apparaît également si on opère sur de l'oxyhémoglobine et sur de la cyan-met-hémoglobine.

2. HEMOGLOBINE DE SANG DE CORDON.

Cette hémoglobine migre, comme sur le papier, moins rapidement que l'hémoglobine A ; surtout elle ne présente pas la fraction A_2 .

3. ELECTROPHORESE CHEZ DES SUJETS ATTEINTS DE DESORDRES HEMATOLOGIQUES.

Nous avons étudié, à titre systématique, un certain nombre d'échantillons d'hémoglobine provenant de malades atteints d'affections hématologiques diverses, hospitalisés dans le Service de notre Maître, le Professeur Jean BERNARD.

Nous avons obtenu des résultats normaux dans les cas suivants :

- Maladie de Minkowski-Chauffard,
- Leucoses aiguës,
- Leucoses myéloïdes chroniques,
- Leucoses lymphoïdes chroniques,
- Maladie de Vaquez,
- Anémies hypochromes ferriprives,
- Maladie de Hodgkin,
- Pancytopénies,

- Mononucléose infectieuse,
- Maladie de Blackfan-Diamond.

4. THALASSEMIES.

Par contre, l'étude des thalassémies est beaucoup plus intéressante.

Nous avons en effet retrouvé les modifications décrites par KUNKEL.

A) Dans la thalassémie majeure, il existe un ralentissement de la migration, comparable à celui observé par l'électrophorèse sur papier mais plus nettement visible. La tache A_2 existe sans modification.

B) Par contre, dans la thalassémie mineure et dans la thalassémie minime, l'allure est bien particulière. Dans ces deux cas il y a une tache A_2 deux à trois fois plus importante que normalement. Dans la thalassémie mineure, elle s'accompagne d'un léger ralentissement de A. Ainsi, cette méthode nous a permis de trouver une anomalie chez les parents d'un enfant atteint de maladie de Cooley typique, possédant 94 p. cent d'hémoglobine alcalino-résistante, tandis que les parents n'avaient aucun stigmate clinique ou hématologique de thalassémie. En effet, l'électrophorèse sur amidon a montré chez le père et la mère l'existence d'une fraction A_2

anormalement élevée.

Dans l'état actuel, il semble donc que l'électrophorèse sur amidon soit le seul moyen de concrétiser la tare thalassémique au cours des thalassémies minimes, en dehors de la mesure de la résistance globulaire, et l'on sait combien celle-ci a été critiquée.

5. LES HEMOGLOBINOSES CONNUES.

Nous avons également étudié systématiquement les hémoglobinoses B, C, E, G, à l'état homozygote et hétérozygote. Leurs vitesses de migration, comparées à celles des témoins "Hémoglobine adulte" et "Hémoglobine de sang de cordon", sont sensiblement les mêmes que par électrophorèse sur papier. La séparation des hétérozygotes est cependant plus nette.

La tache A_2 a été retrouvée dans les hémoglobinoses B et C. Dans l'hémoglobinoase B, elle se détache incomplètement du trait B ; elle semble plus abondante que chez le sujet normal.

Dans l'hémoglobinoase C, la fraction A_2 se retrouve en avant de la tache C.

Dans l'hémoglobinoase E, on ne voit pas A_2 qui, sur amidon, migre à la même vitesse.

Signalons cependant que, sur papier, on voit un trait dont l'aspect évoque très sensiblement A_2 et qui migre

à la vitesse de C. Dans l'hémoglobinoase E, sur papier, on voit nettement le trait, ce qui fait penser que A_2 existe bien dans l'hémoglobinoase E.

6. HEMOGLOBINE INEDITE.

Enfin, chez une petite malade du Service de M. le Professeur Jean BERNARD, Israélite tunisienne atteinte d'une anémie hémolytique avec hépatosplénomégalie, l'électrophorèse sur amidon nous a montré une anomalie inédite. La seule anomalie de son hémoglobine par les autres méthodes d'étude était un ralentissement très discret, à l'électrophorèse sur papier, qui la situait entre les hémoglobines A et G.

Sur amidon, nous avons retrouvé ce ralentissement de la fraction principale, une tache A_2 sans anomalie, mais surtout, très en arrière, migrant plus lentement que l'hémoglobine C, une petite fraction hémoglobinique représentant environ 1/1000e de la tache principale, et constamment retrouvée à plusieurs examens différents portant sur des échantillons de sang différents. Malgré sa faible concentration, cette fraction présente néanmoins une couleur jaune orangée, qui permet de la repérer et d'avancer qu'il s'agit bien d'hémoglobine et non d'une autre protéine.

L'examen de l'hémoglobine du père et de la mère n'a pas montré d'anomalie.

En résumé, l'électrophorèse sur amidon de l'hémoglobine montre une fraction appelée A_2 dans le sang de tous les adultes. Elle est absente du sang de cordon. Comme l'a montré KUNKEL, cet examen est particulièrement intéressant dans l'étude des formes mineures et minimales de la thalassémie. L'augmentation de la fraction A_2 au cours de la thalassémie minime est parfois le seul critère de cette tare.

Par ailleurs, cette méthode nous a permis d'observer, dans un syndrome d'anémie hémolytique, la présence d'une hémoglobine extrêmement lente, que n'avaient pas pu dépister les autres méthodes d'étude.

Il faut enfin verser au dossier de la nature exacte de l'hémoglobine des thalassémies le fait que, dans les thalassémies majeures renfermant de très grandes proportions d'hémoglobine dite foetale, on trouve de l'hémoglobine A_2 alors que celle-ci est constamment absente du sang de cordon.

TROISIEME PARTIE

RESULTATS EXPERIMENTAUX

TROISIEME PARTIE

R E S U L T A T S E X P E R I M E N T A U X

Nous avons essayé, par électrophorèse sur amidon, de vérifier la thèse de l'hétérogénéité de l'hémoglobine.

1. RAPPEL DE LA POSITION DU PROBLEME.

De nombreuses méthodes physico-chimiques permettent de fractionner l'hémoglobine normale. Une objection commune peut leur être faite, celle d'être susceptible de réaliser un artéfact de préparation : dénaturation partielle, combinaisons salines différentes, mélanges, méthémoglobine, par exemple.

La méthode de KUNKEL en est un exemple. Elle permet de fractionner l'hémoglobine normale en au moins deux composants, mais on peut lui objecter que les conditions

expérimentales ont pu réaliser un artéfact de préparation.

Pour éviter cette objection, nous avons appliqué à l'électrophorèse la méthode des incorporations d'éléments marqués proposée par SCHAPIRA, DREYFUS et KRUH en 1950 : On rend radioactives des hémoglobines, soit au moyen de ^{59}Fe injecté in vivo, soit grâce à ^{14}C incorporé in vitro par les réticulocytes, et l'on étudie la radioactivité des fractions obtenues par des méthodes physiques telles que chromatographie ou électrophorèse. Une radioactivité inégale dans les fractions obtenues montre l'existence d'hémoglobines essentiellement différentes. Cette méthode générale avait déjà été appliquée à l'hémoglobine par SCHAPIRA, DREYFUS et KRUH, qui ont montré l'hétérogénéité des fractions obtenues après chromatographie sur papier et sur alumine.

Notre travail a consisté à faire la même étude sur les fractions d'hémoglobine marquée, après électrophorèse sur amidon.

Les quantités de fraction A_2 recueillies étaient trop faibles pour permettre une purification satisfaisante de l'hémine.

Nous avons donc comparé l'activité spécifique, c'est-à-dire la radioactivité-minute par milligramme de substance, de l'hémine obtenue à partir de la moitié antérieure et de la moitié postérieure de la tache principale.

2. RESULTATS.

Nous avons fait deux expériences avec de l'hémoglobine marquée au ^{14}C et deux expériences avec de l'hémoglobine marquée au ^{59}Fe .

A) Expériences au ^{14}C .

Expérience N° 1 : Anémie hémolytique,

Réticulocytose de 15 p. cent au moment de
l'expérience,

Incubation in vitro avec du glycolle ^{14}C

Fraction	Poids en mg	Coups comptés	Temps	Coups/ min.	Mouvt propre déduit	Correct. d'épais- seur	Coups/ min./mg.
Fraction I	2,87	1.272	30 min	42,5	9,5	10,3	3,5
Fraction II	1,31	2.051	40 min	44,5	11,5	12	9,15

$$\frac{\text{Fraction I}}{\text{Fraction II}} = 0,4$$

Expérience N° 2 : Ictère hémolytique,

Réticulocytose de 12 p. cent au moment de
l'expérience,

Incubation in vitro avec du glycocolle ^{14}C .

Fraction	Poids en mg	Coups comptés	Temps	Coups/min.	Mouv ^{nt} propre déduit	Correct. d'épaisseur	Coups/min./mg.
Fraction I	6,05	2.000	29 min 64/100e	67	36	42,5	6,8
Fraction II	6,25	2.000	26 min 74/100e	75	44	51,5	8,5

Dans ce cas, l'activité de la globine a été également mesurée et on a trouvé un rapport $\frac{\text{Fraction I}}{\text{Fraction II}}$ égal à 0,66, tandis que pour l'hème le rapport $\frac{\text{Fraction I}}{\text{Fraction II}}$ était égal à 0,8.

B) Expériences au ^{59}Fe

Expérience N° 3 : Anémie hypochromique

Injectée avec 15 microcuries

Prélèvement effectué le 20^e jour après.

Fraction I	4	2.176	10 min	217,5	187	208	52
Fraction II	4	2.255	10 min	225,5	217	217	54

$$\frac{\text{Fraction I}}{\text{Fraction II}} = 0,96$$

Expérience N° 4 : Anémie hypochrome,

Injectée avec 15 microcuries,

Prélèvement effectué le 20e jour après.

Fraction	Poids en mg	Coups comptés	Temps	Coups/ min.	Mc ²⁵⁴ propre déduit	Correct. d'épais- seur	Coups/ min./mg.
Fraction I	2,35	4.000	3 min. 58/100e	1.115	1.096	1.170	500
Fraction II	1,87	4.000	4 min. 21/100e	950	930	990	528

$$\frac{\text{Fraction I}}{\text{Fraction II}} = 0,94$$

3. CONCLUSION

a) On voit que pour les expériences avec le ^{14}C , les rapports spécifiques sont différents de l'unité. Cependant, on peut objecter que l'hème est peut-être contaminée par des pollutions radioactives. Nous nous proposons de désarmer cette critique en obtenant une hémine cristallisée.

b) Par contre, le rapport spécifique, dans les expériences avec le ^{59}Fe , ne peut être tenu pour significatif.

On sait, par ailleurs, que dans leurs expériences SCHAPIRA, DREYFUS et KRUH ont montré que le rapport des acti-

vités spécifiques des fractions héminiques change de sens selon que l'on procède par incorporation in vivo ou in vitro. Ce qui n'a pas été le cas dans nos expériences.

On peut en conclure qu'il serait plus intéressant de refaire ce type d'expériences en explorant l'activité spécifique de la tache principale et de la fraction A_2 , ce que KUNKEL a d'ailleurs annoncé au Colloque de l'Hémoglobine qui s'est tenu en Mai 1957 à Washington.

Nous avons par ailleurs utilisé l'électrophorèse sur amidon dans d'autres expériences :

4. FRACTIONNEMENT DU SANG DE CORDON.

On sait les difficultés auxquelles on se heurte quand on veut obtenir séparément et non dénaturées l'hémoglobine dite foetale et celle dite adulte du sang de cordon.

Nous avons essayé, par l'électrophorèse sur plaque, d'obtenir ces fractions. Dans un premier temps, nous faisons migrer un échantillon de sang de cordon. Au bout de 16 heures on arrête la migration. On coupe dans le sens transversal la tache obtenue, à peu près au niveau de la moitié, ce qui correspond à une ébauche d'étranglement. Les deux fractions ainsi séparées sont remises à migrer simultanément sur une

nouvelle plaque d'amidon, soit en transposant les blocs d'amidon tel que, soit en éluant puis reconcentrant les fractions.

La partie antérieure de la tache initiale migre alors à la même vitesse que le témoin adulte et de façon homogène. La partie postérieure, au contraire, migre plus lentement, et également de façon homogène. Il n'apparaît de fraction A_2 derrière aucune de ces deux fractions.

En résumé :

a) la fraction A_2 semble totalement absente du sang de cordon, et pas seulement masquée par la portion foetale du sang de cordon ;

b) La méthode utilisée permet d'obtenir séparément la fraction dite foetale et la fraction dite adulte du sang de cordon.

5. ETUDE DE LA FRACTION A_2 PAR ELECTROPHORESE BIDIMENSIONNELLE

Nous avons cherché à voir par cette méthode le comportement de la fraction A_2 . Après avoir obtenu le fractionnement dans la première dimension, on fait migrer dans le sens perpendiculaire. On note alors que la fraction A se déplace suivant la bissectrice de l'angle droit formé par les deux sens de migration. Il n'apparaît pas de nouvelle fraction A_2

derrière cette fraction A.

La fraction A_2 se déplace de façon homogène, suivant la nouvelle direction. On obtient d'ailleurs une sorte de regroupement de cette fraction A_2 qui, à la fin de l'expérience, est particulièrement ramassée et nettement visible.

7. ELECTROPHORESE VERTICALE.

A) L'hémoglobine adulte se fractionne particulièrement facilement suivant cette méthode. On obtient une large bande anodique, et une fine bande cathodique, qui semble correspondre à la fraction A_2 . Cette bande d'ailleurs, à plusieurs reprises, s'est fractionnée elle-même en deux zones distinctes.

B) Par cette méthode, nous avons séparé très facilement la fraction A et la fraction B des porteurs du trait drépanocytaire. Ces deux fractions se séparent ainsi complètement l'une de l'autre. De plus, on voit apparaître sur le versant cathodique de la fraction B une troisième bande qui doit correspondre à la fraction A_2 ; elle semble plus importante que chez le sujet normal. Ce dernier fait est difficile à observer par l'électrophorèse sur plaque car, dans ce cas, l'observation est gênée par une mauvaise séparation entre B et A_2 .

7. ETUDE COMPAREE DES FRACTIONS OBTENUES PAR ELECTROPHORESE SUR PLAQUE D'AMIDON et PAR CHROMATOGRAPHIE SUR RESINES ECHANGEUSES D'IONS.

A) Sang de cordon.

La chromatographie sur Amberlite, selon la technique décrite par HUISMAN, sépare l'hémoglobine de sang de cordon en deux fractions : une rapide, dite foetale, l'autre lente, dite adulte. Après concentration des fractions par du polyéthylène-glycol, nous les avons fait migrer sur plaque. Les fractions migrent à des vitesses inégales, la fraction rapide plus lentement que le témoin adulte, la fraction lente très légèrement plus vite que le témoin. Elles apparaissent homogènes, et sont dépourvues de fraction A_2 .

B) Sang d'adulte normal.

La chromatographie sépare une fraction principale et une fraction secondaire quantitativement beaucoup plus discrète. Nous avons essayé de vérifier si cette fraction correspond ou non à la tache A_2 .

Voici les résultats :

- La fraction principale ne présente pas de A_2 sur amidon ;
- La fraction secondaire migre à la même vitesse sur amidon et ne présente pas de A_2 ;
- L'éluat global de la colonne chromatographique présente sur

amidon une tache A_2 .

En résumé, l'Amberlite n'adsorbe pas la fraction A_2 . Celle-ci ne semble pas correspondre à la fraction secondaire obtenue sur Amberlite. Il serait intéressant de faire la contre-expérience : faire passer sur Amberlite la fraction A_2 obtenue par électrophorèse. Les faibles quantités de fraction A_2 obtenues ne l'ont pas permis jusqu'ici.

Ces expériences croisées Amberlite - Amidon ont eu pour but d'essayer d'identifier la fraction A_2 décrite par KUNKEL. On peut en rapprocher les travaux de DERRIEN, LAURENT et BORGAMO qui, dans le produit de dénaturation alcaline de l'hémoglobine ont isolé une chromoprotéine X qu'ils pensent être analogue à A_2 .

La partie expérimentale de notre travail a donc porté sur l'analyse de l'hétérogénéité de l'hémoglobine à l'aide de l'électrophorèse sur amidon utilisée de diverses manières.

L'électrophorèse sur amidon s'est montrée ainsi une méthode préparative intéressante permettant d'obtenir des fractions d'hémoglobine marquées *in vivo* et *in vitro*.

Nous pensons que c'est un des moyens d'aborder le problème de l'hétérogénéité de l'hémoglobine, moyen qui vient

s'ajouter à ceux proposés par ROCHE et DERRIEN :

- solubilité dans des milieux de concentration croissante,
- électrophorèse en milieu très dilué.

La technique de l'électrophorèse préparative sur amidon, suivie d'une électrophorèse sur gel d'amidon, suivant la technique utilisée par MORETTI, BOUSSIER et JAYLE, permettra peut-être de mieux préciser la nature de cette hémoglobine A₂.

CONCLUSIONS

A la suite des travaux de KUNKEL sur l'électrophorèse horizontale sur amidon, et de ceux de PORATH sur l'électrophorèse verticale, nous avons entrepris une double étude de l'hémoglobine par ces méthodes :

- 1°) Une étude de chimie clinique,
- 2°) Une étude expérimentale.

I - ETUDE CLINIQUE.

1. Chez le sujet adulte normal.

Nous avons constamment retrouvé le même aspect : Fractionnement au bout de douze heures dans les conditions de l'expérience en une tache principale anodique prolongée vers l'anode par une pointe, et suivie par une tache postérieure cathodique quantitativement beaucoup plus faible.

La fraction principale est appelée A ;

l'autre A_2 .

2. L'hémoglobine de sang de cordon ne présente pas cette fraction A_2 . La tache obtenue migre, comme sur le papier, moins rapidement que l'hémoglobine A.

3. Nous avons étudié une grande variété de syndromes hémato-
logiques. Nous avons obtenu des résultats normaux dans
les cas suivants :

- Maladie de Minkowski-Chauffard,
- Leucoses aigus,
- Leucoses lymphocides chroniques,
- Leucoses myéloïdes chroniques,
- Maladie de Vaquez,
- Anémies hypochromes ferriprives,
- Maladie de Hodgkin,
- Pancytopénie,
- Mononucléose infectieuse,
- Maladie de Blackfan-Diamond.

4. Par contre, dans les thalassémies, nous avons retrouvé
les modifications décrites par KUNKEL :

= dans tous les cas, ralentissement de A,

= tache A_2 très importante en cas de thalassémie mineure.

5. Dans les diverses hémoglobinoses connues, la méthode d'électrophorèse sur amidon nous a donné des vitesses comparables à celles que l'on obtient sur papier.

6. Enfin, chez une petite Israélite Tunisienne, atteinte d'un syndrome d'anémie hémolytique dont l'allure évoquait une hémoglobinoase mais où les méthodes classiques ne décelaient aucune anomalie, nous avons trouvé, entre autres, une petite fraction très lente, qui semble être la plus lente des hémoglobines connues.

II - ETUDE EXPERIMENTALE.

Nous avons essayé, par l'électrophorèse sur amidon, de vérifier la thèse de l'hétérogénéité de l'hémoglobine.

Position du problème.

De nombreuses méthodes physico-chimiques permettent de fractionner l'hémoglobine normale. Une objection commune peut leur être faite : celle d'être susceptibles de réaliser un artéfact de préparation.

Pour éviter cette objection de créer des fractions artificielles, nous avons appliqué à l'électrophorèse la méthode des incorporations d'éléments marqués proposée par SCHAPIRA, DREYFUS et KRUH en 1950. Elle consiste à rendre radioactives des hémoglobines par du ^{59}Fe injecté in vivo ou du ^{14}C incorporé in vitro, et à étudier la radioactivité des fractions obtenues par des méthodes physiques telles que chromatographie ou électrophorèse par exemple. Une radioactivité inégale dans les fractions obtenues montre l'existence d'hémoglobines essentiellement différentes.

Notre travail a consisté :

1°) A étudier l'homogénéité électrophorétique de la tache A_2 ; celle-ci est unique en électrophorèse horizontale, mais semble se dédoubler par électrophorèse verticale.

2°) A comparer l'activité spécifique, c'est-à-dire la radioactivité rapportée au poids des fractions antérieure et postérieure de la tache principale sur électrophorèse :

- sur l'hémoglobine marquée par ^{14}C in vitro, la fraction antérieure a toujours été plus marquée que la postérieure ,

- l'hémoglobine marquée par ^{59}Fe in vivo n'a pas présenté, par notre méthode, de différences significatives.

3°) Nous nous proposons d'étendre cette méthode à l'étude des porteurs hétérozygotes d'une tare hémoglobinique.

4°) Nous avons enfin, par des expériences couplées avec le fractionnement de l'hémoglobine par des résines échangeuses d'ions, vérifié que la fraction A_2 ne semble pas correspondre à la petite fraction d'hémoglobine foetale qui paraît persister chez l'adulte.

Vu :

Le Président
de la thèse,

Jean BERNARD

Vu :

Le Doyen
de la Faculté de Médecine,

L. BINET

Vu et Permis d'Imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

J. SARRAILL

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

1. BERNARD (J.), SCHAPIRA (G.), DREYFUS (J.C.), MATHE (G.), LABIE (D.), ROSA (J.) et COHEN (D.) -

Sur une variété inédite d'hémoglobine.

C. R. Séance Sté d'Hématologie du 21 Nov. 1957.

2. BISERTE (G.) -

Dispositif d'électrophorèse de zone sur amidon.

Ann. Biol. Clin., 1955, 6, 159.

3. CABANNES (R.) -

Recherches sur les hémoglobines humaines et animales en Algérie.

Alg. Méd., 1957, 61.

4. CEPPELLINI (R.) -

L'emoglobina normale A₂. Variazioni quantitative in soggetti normale e thalassemici.

La Transf. del Sangue, 1956, 1, 108.

5. DERRIEN (Y.) et REYNAUD (J.) -
Sur l'hétérogénéité électrophorétique de l'hémoglobine humaine normale.
C. R. Soc. Biol., 1953, 147, 660.
6. DERRIEN (Y.), LAURENT (J.) et BORGAMO (M.) -
Sur une protéine accompagnant l'hémoglobine de l'homme adulte et sa concentration dans la fraction alcalino-résistante isolée de cette dernière.
C. R. Acad. Sci., 1956, 242, 1538.
7. DREYFUS (J.C.) -
Les hémoglobines humaines en pathologie.
Sem. Hôp. Paris, 1954, 30, 3722.
8. DREYFUS (J.C.), SCHAPIRA (G.) et HARARI (M.) -
Incorporation du fer radioactif "in vitro" dans les globules rouges du nouveau-né (hémoglobine fœtale et hémoglobine adulte).
C. R. Soc. Biol., 1954, 148, 1798.
9. FLODIN (P.) et PORATH (J.) -
Zone electrophoresis in starch columns.
Biochim. Biophys. Acta, 1954, 13, 175.
10. HOCH (H.) et BARR (G.H.) -
Minor hemoglobins in erythrocytes. Demonstration and analysis by paper electrophoresis.
Clinical Chemistry, 1956, 2, 125.

11. HUISMAN (T.H.) et FRINS (M.K.) -

Chromatographic estimation of four different kinds of human hemoglobins.

J. Lab. Clin. Med., 1955, 46, 255.

12. KRUH (J.), DREYFUS (J.C.) et SCHAPIRA (G.) -

Recherches sur la biochimie de l'hémoglobine à l'aide de fer radioactif.

III - Fractionnement des hémoglobines de lapin adulte par chromatographie sur papier.

Bull. Soc. Chim. Biol., 1952, 34, 773.

13. KRUH (J.) -

Recherches sur la biochimie de l'hémoglobine à l'aide de fer radioactif.

IV - Fractionnement des hémoglobines de lapin adulte par chromatographie sur alumine.

Comparaison avec les résultats obtenus par d'autres méthodes.

Bull. Soc. Chim. Biol., 1952, 34, 778.

14. KRUH (J.), DREYFUS (J.C.) et SCHAPIRA (G.) -

Recherches sur la biochimie de l'hémoglobine à l'aide de fer radioactif.

V - Biosynthèse des hémoglobines in vitro.

Bull. Soc. Chim. Biol., 1953, 35, 1181.

15. KUNKEL (H.G.) -

Zone electrophoresis.

In : Methods of Biochemical Analysis, D. CLICK,
New York Interscience Edit., 1954, Vol. 1,
p. 141.

16. KUNKEL (H.G.) et WALLENIUS (G.) -
New hemoglobin in normal adult blood.
Science, 1955, 122, 288.
17. KUNKEL (H.G.), CERPELLONI (R.), MÜLLER (U.) et WOLF (J.)
Observations on the minor basic hemoglobin component in the blood of normal individuals and patients with thalassemia.
J. Clin. Invest., 1957, 26, 1015.
18. MORETTI (J.), BOUSSIER (G.) et JAYLE (M.F.) -
Réalisation technique et premières applications de l'électrophorèse sur gel d'amidon.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1957, 39, 593.
19. MORETTI (J.), BOUSSIER (G.) et JAYLE (M.F.) -
Application de l'électrophorèse sur gel d'amidon à l'étude de l'haptoglobine.
C. R. Soc. Biol., 1957, 151, 832.
20. MORRISSON (M.) et COOK (J.L.) -
Chromatographic fractionation of normal adult oxyhemoglobin.
Science, 1955, 122, 920.
21. PORATH (J.) -
Methodological studies of zone electrophoresis in zone columns.
Biochim. Biophys. Acta, 1956, 22, 151.

22. ROCHE (J.) et DERRIEN (Y.) -

Sur les caractères et la multiplicité des hémoglobines humaines.

Rev. Hématol., 1951, 6, 470.

23. ROCHE (J.) et DERRIEN (Y.) -

Solubilité dans les solutions salines concentrées et caractères spécifiques des hémoglobines sanguines.

Bull. Soc. Chim. Biol., 1941, 23, 1114.

24. ROCHE (J.) et DERRIEN (Y.) -

Les hémoglobines humaines et les modifications physiologiques et pathologiques de leurs caractères.

Le Sang, 1953, 24, 97.

25. SCHAPIRA (G.), DREYFUS (J.C.) et KRUH (J.) -

Application de la méthode des dilutions isotopiques à l'étude de la spécificité des protéines.

Bull. Acad. Sci., 1949, 228, 1834.

26. SCHAPIRA (G.), DREYFUS (J.C.) et KRUH (J.)

Métabolisme différent de deux hémoglobines chez un même animal adulte, étudié à l'aide du fer radioactif.

Bull. Acad. Sci., 1950, 230, 1613.

27. SCHAPIRA (G.), DREYFUS (J.C.) et KRUH (J.)

Recherches sur la biochimie de l'hémoglobine à l'aide du fer radioactif.

I - Fractionnement des hémoglobines de lapin adulte par dénaturation alcaline.



Bull. Soc. Chim. Biol., 1951, 33, 812.

28. SCHAPIRA (G.), DREYFUS (J.C.) et KRUH (J.) -

Synthèse des hémoglobines humaines marquées in vivo (hommes normaux et atteints de leucémie aiguë) et in vitro.

C. R. Soc. Biol., 1953, 147, 780.

29. SCHAPIRA (G.), DREYFUS (J.C.), KRUH (J.), FACLETTI (G.) et BOIRON (M.) -

Hétérogénéité métabolique de l'hémoglobine de sang de cordon étudiée à l'aide du fer et du glyco-colle radioactifs.

C. R. Soc. Biol., 1955, 149, 1178.

30. SCHAPIRA (G.), DREYFUS (J.C.) et KRUH (J.) -

Hétérogénéité of hemoglobin and method of isotopic biosynthesis.

Symposium sur les Hémoglobines, Washington, 2-3 Mai 1957.

31. SCHAPIRA (G.), KRUH (J.), BUSCARD (A.) et DREYFUS (J.C.) -

Recherches sur la biochimie de l'hémoglobine à l'aide du fer radioactif.

II - Fractionnement des hémoglobines de lapin adulte par électrophorèse.

Bull. Soc. Chim. Biol., 1951, 33, 822.

32. SCHAPIRA (G.), TUBIANA (M.), DREYFUS (J.C.), KRUH (J.), BOIRON (M.) et BERNARD (J.) -

Recherches sur l'anémie des leucoses aiguës.

I - Métabolisme du fer dans la leucose aiguë étudié à l'aide du fer 59.

Rev. Hématol., 1954, 2, 3.

33. SOMERS (C.G.) et McCLENDON (J.H.) -

Simple large scale ultrafiltration osmotically
forced, dialysis.

Plant. Physiol., 1955, 30, 350.

TABLE DES MATIERES

	Pages
INTRODUCTION	1
TECHNIQUES UTILISEES	4
RESULTATS EN CLINIQUE	11
RESULTATS EXPERIMENTAUX	19
CONCLUSIONS	30
BIBLIOGRAPHIE	37

Dactylographie à PARIS

Février 1958

1958-1959 (1958-1959)

